一般研究用キット

カゼインザイモ電気泳動キット(コスモ・バイオ型)

(Casein-zymography kit, Code No.AK63)

平成 25 年 9 月 2 日改訂

※本品は、研究目的にのみご使用ください。

MMPs(マトリックスメタロプロテアーゼ)は、メタロプロテアーゼファミリーの１つで、生体内で細胞外マトリックス成分の代謝に関与している酵素として 20 数種類同定されています。その MMPs の検出方法の１つとして、電気泳動で分離し酵素活性を検出する方法（ザイモグラフィー）が広く利用されております。

本キットはプレート、バッファー調製などを極力簡略化し、手軽にカゼインを基質タンパクとしたカゼインザイモ電気泳動を行えるように構成しております。ヒトおよび各種動物の血液・体液・分泌液・組織・細胞・細胞培養溶液中に含まれている MMP-1, MMP-3 などの MMP 検出確認にご利用下さい。

《Ⅰ-1. キット構成》

内　　容	容量	本数	保存温度	危険表記および取扱上の注意
カゼインザイモ泳動 プレキャストゲル	12 検体用	5 枚	4～10℃ (禁凍結)	成分は労働安全衛生法に非該当ですが、取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。
洗浄液（10 倍濃縮）	100mL	1 本	4～10℃	(成分として Triton X-100 を 20%含む) 化学名　ﾎﾟﾘｵｷｼｴﾁﾚﾝ(10)ｵｸﾁﾙﾌｪﾆﾙｴｰﾃﾙ PRTR 法 第一種指定化学物質に該当 警告 ・重篤な眼への刺激　・水生生物に有害 ・長期的影響により水生生物に有害
酵素反応用バッファー （10 倍濃縮）	25mL	1 本	4～10℃	(成分として Triton X-100 を 10%含む) 化学名　ﾎﾟﾘｵｷｼｴﾁﾚﾝ(10)ｵｸﾁﾙﾌｪﾆﾙｴｰﾃﾙ PRTR 法 第一種指定化学物質に該当 警告 ・重篤な眼への刺激　・水生生物に有害 ・長期的影響により水生生物に有害
泳動用バッファー （10 倍濃縮）	150mL	1 本	4～10℃	(成分としてﾄﾞﾃﾞｼﾙ硫酸ﾅﾄﾘｳﾑを 1%含む) PRTR 法 第 1 種指定化合物質に該当 危険 ※新規対象物質として平成 21 年 10 月 1 日施行 ・可燃性個体　・飲み込むと有害 ・皮膚に接触すると有害　・皮膚刺激 ・強い眼刺激　・呼吸器への刺激のおそれ ・長期にわたる、または反復ばく露により腎臓の障害のおそれ ・水生生物に非常に強い毒性あり
サンプル調整バッファー	5mL	1 本	4～10℃	(成分としてﾄﾞﾃﾞｼﾙ硫酸ﾅﾄﾘｳﾑを 2.7%含む) PRTR 法 第 1 種指定化合物質に該当 危険 ※新規対象物質として平成 21 年 10 月 1 日施行 ・可燃性個体　・飲み込むと有害 ・皮膚に接触すると有害　・皮膚刺激 ・強い眼刺激　・呼吸器への刺激のおそれ ・長期にわたる、または反復ばく露により腎臓の障害のおそれ ・水生生物に非常に強い毒性あり

内　　容	容量	本数	保存温度	危険表記および取扱上の注意
MMP マーカー (glycosylated pro MMP-3, pro MMP-3, pro MMP-1)	0.2mL	1 本	4～10℃	(成分としてﾄﾞﾃﾞｼﾙ硫酸ﾅﾄﾘｳﾑを 1.3%含む) PRTR 法 第 1 種指定化合物質に該当 危険 ※新規対象物質として平成 21 年 10 月 1 日施行 ・可燃性個体　・飲み込むと有害 ・皮膚に接触すると有害　・皮膚刺激 ・強い眼刺激　・呼吸器への刺激のおそれ ・長期にわたる、または反復ばく露により腎臓の障害の恐れ ・水生生物に非常に強い毒性あり
染色液	100mL	1 本	室温	(成分としてエタノールを 25%含む) 労働安全衛生法　第 57 条の 2 に該当 危険 ・眼への刺激　・引火性の高い液体及び蒸気 ・眠気またはめまいのおそれ　・呼吸器への刺激のおそれ ・生殖能または胎児への悪影響のおそれ ・長期にわたる、又は反復ばく露により肝臓の障害 ・長期にわたる、又は反復ばく露により中枢神経系の障害のおそれ --- (成分として酢酸を 7.5%含む) 労働安全衛生法　第 57 条の 2 に該当 危険 ・引火性液体及び蒸気　・飲み込むと有害の恐れ ・重篤な皮膚の薬傷・眼の損傷　・皮膚に接触すると有害 ・重篤な眼の損傷 ・血液、呼吸器系の障害　・水生生物に有害 ・吸入するとアレルギー、喘息または、呼吸困難を起こすおそれ

※ガラスプレートサイズは 100(W)×100(H)、ゲルの厚みは 1mm。
※本製品は、コスモ・バイオ株式会社、第一化学株式会社、ノベックス社、株式会社バイオクラフト、テフコ株式会社、日本エイドー株式会社、マリソル社の電気泳動槽に対応です
※カゼインザイモ泳動ゲルプレートは、早めにご使用することをお勧めいたします。
また凍結した場合、変性しますので保存温度にご注意ください。
※プレートの素材はガラス製のため取り扱いにご注意ください。
※酢酸、メタノール、精製水を別途にご用意願います。

《Ⅰ-2. キットの特徴》

・ザイモグラフィーに必要なプレキャストゲル、試薬類がパッケージングしている。

《Ⅱ. 試薬調製および保存温度》

1. 泳動用バッファー
   泳動用バッファー（10 倍濃縮）を精製水で 10 倍希釈して使用して下さい。4℃保存。
2. 洗浄液
   洗浄液（10 倍濃縮）を精製水で 10 倍希釈して使用して下さい。4℃保存。
3. 酵素反応用バッファー
   酵素反応用バッファー（10 倍濃縮）を精製水で 10 倍希釈して使用して下さい。4℃保存。
4. 染色液
   そのまま使用できます。
   ただし一度使用した染色液を再度使用することはできませんので、ご注意ください。室温保存。
5. 固定液
   お客様でご用意して頂きます。酢酸:メタノール:精製水＝10:40:50 で混合して下さい。室温保存。
6. 脱色液
   お客様でご用意して頂きます。酢酸:メタノール:精製水＝5:30:65 で混合して下さい。室温保存。

《Ⅲ. 操作手順》

(1)泳動陽極槽（下）に、泳動用バッファーを 100～150mL 入れる。泳動用バッファーの適量は、電気泳動槽の取扱説明書に従ってください。
(2)カゼインザイモ泳動プレキャストゲルに挿されているコームを慎重に抜き取り、泳動槽にセットする。

サンプルホールがある辺が上になります。ホールに乱れがある場合は、針などを用いて形状を整えて下さい。

(3)泳動陰極槽（上）に、泳動用バッファーを 100～150mL 程度入れる。

(4)サンプルを等量のサンプル調整バッファーと混合し、室温で 15 分間放置する（加熱処理は行わないでください）。

(5)ゲルプレートにサンプル、MMP マーカーを添加する。
（MMP マーカーを 10μL 添加し、37℃で 24 時間酵素反応を行った泳動パターンが図 1 になります）
※MMP マーカーは、サンプル調整バッファーと混合せずにそのままご使用できます。

(6)15mA の定電流で泳動する（ゲルが 2 枚の場合は 30mA）。

(7)泳動が終了したら電源を切り、泳動槽からゲルプレートを外す。

(8)ゲルプレートの上部のガラス板を取り除き、下部のガラス板（最も大きなガラス）からスパーテルやスパチュラなどを用いて、ゲルを取り外す。

(9)ゲルを洗浄液 200mL が入っている容器に移し、室温で 1 時間振盪する。

(10)酵素反応用バッファー50mL が入っている容器にゲルを移して密封し、37℃に設定した恒温器に入れ 20～40 時間（酵素濃度が低いほど長時間反応させる）酵素反応を行う。

(11)ゲルを固定液 100mL が入っている容器に移し、室温で 30 分間振盪しながら固定を行う。

(12)ゲルを染色液 20mL が入っている容器に移し、室温で 1 時間振盪しながらタンパク染色を行う。

(13)ゲルを脱色液の入っている容器に移し、数時間振盪しながら脱色を行う。

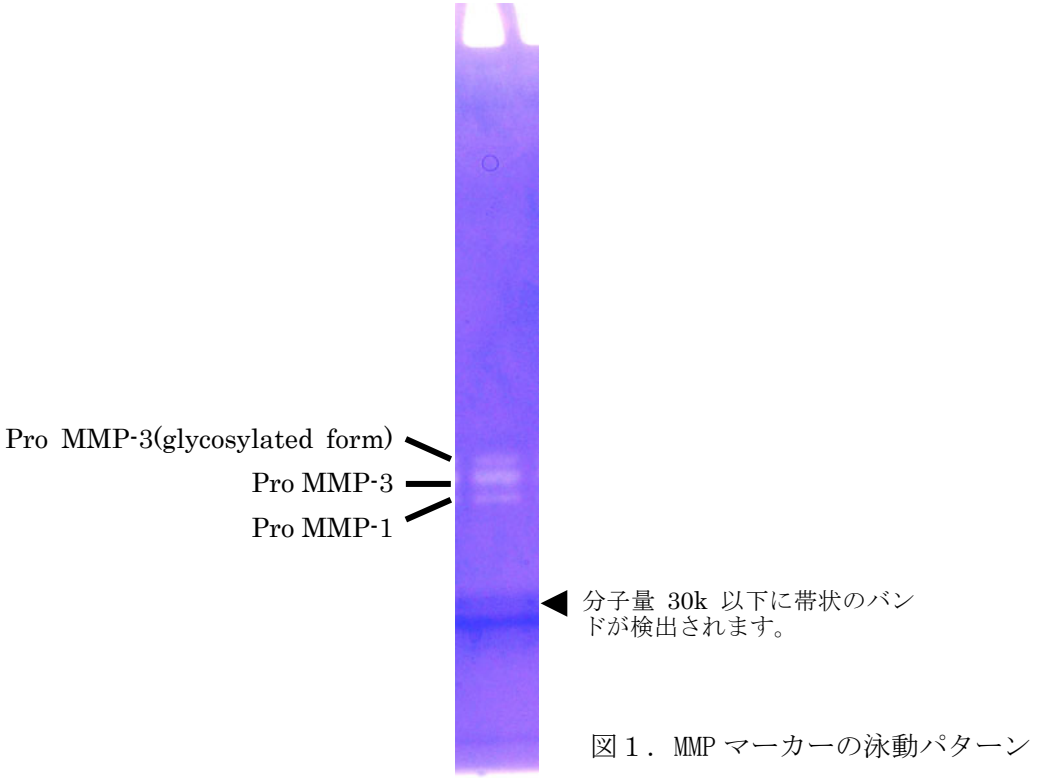

図 1． MMP マーカーの泳動パターン

《Ⅳ. 製品のお知らせ》

各種ザイモグラフィー製品およびプレキャストゲル、MMP マーカーの単品販売もおこなっております。
詳しくは弊社ホームページをご覧ください。

ﾒｰｶｰｺｰﾄﾞ	品名	キット構成
AK64	カゼインザイモ電気泳動 プレキャストゲル（コスモ・バイオ型）	カゼインザイモ泳動プレキャストゲル（5 枚）
AK60	カゼインザイモ電気泳動 プレキャストゲル（アトー型）	カゼインザイモ泳動プレキャストゲル、泳動用バッファー、洗浄液、酵素反応用バッファー、サンプル調整バッファー、染色液、MMP マーカー
AK45	ゼラチンザイモ電気泳動キット （アトー型）	ゼラチンザイモ泳動プレキャストゲル、泳動用バッファー、洗浄液、酵素反応用バッファー、サンプル調整バッファー、染色液、MMP マーカー
AK47	ゼラチンザイモ電気泳動キット （コスモ・バイオ型）	ゼラチンザイモ泳動プレキャストゲル、泳動用バッファー、洗浄液、酵素反応用バッファー、サンプル調整バッファー、染色液、MMP マーカー
AK38	ゼラチンザイモ用 MMP マーカー	200μL

《本製品をご利用になられた文献、発表データ 》

本製品をご利用いただいて投稿された論文、学会発表パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付方法

〒063-0061　北海道札幌市西区西町北 12 丁目 1-12　YS ビル
コスモ・バイオ株式会社　プライマリーセル事業部　あて郵送
または　primarycell@cosmobio.co.jp　あて PDF ファイル送信

コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

〒135-0016　東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL : http://www.cosmobio.co.jp/

● 営業部（お問い合わせ）
TEL : (03) 5632-9610　FAX : (03) 5632-9619
TEL : (03) 5632-9620

● プライマリーセル事業部（技術的なお問い合わせ）
TEL : (011) 667-5911　FAX : (011) 667-5912
E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp
URL : http://www.primarycell.com/